



MINISTERIO
DE CIENCIA
Y TECNOLOGIA



REC'D 12 MAR 2003

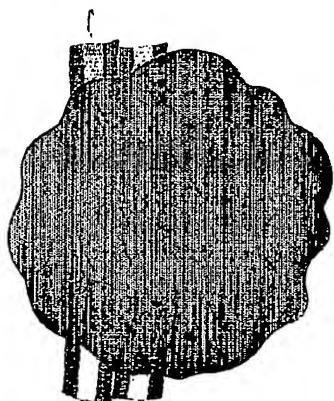
WIPO

PCT

CERTIFICADO OFICIAL

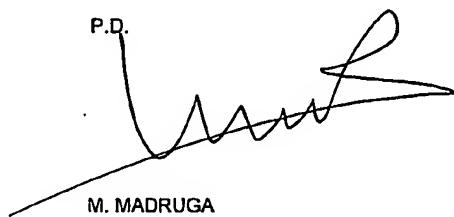
Por la presente certifico que los documentos adjuntos son copia exacta de la solicitud de PATENTE de INVENCION número 200201671, que tiene fecha de presentación en este Organismo el 17 de Julio de 2002.

Madrid, 25 de febrero de 2003



El Director del Departamento de Patentes
e Información Tecnológica.

P.D.



M. MADRUGA

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



MINISTERIO
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA



17 JUL. 2002

083591

INSTANCIA DE SOLICITUD

NUMERO DE SOLICITUD

P200201671

02 JUL 17 13:23

FECHA Y HORA DE PRESENTACIÓN EN LA O.E.P.M.

FECHA Y HORA DE PRESENTACIÓN EN LUGAR DISTINTO O.E.P.M.

(4) LUGAR DE PRESENTACIÓN CÓDIGO
MADRID 28

(1) MODALIDAD <input checked="" type="checkbox"/> PATENTE DE INVENCIÓN		M.....D				
(2) TIPO DE SOLICITUD <input type="checkbox"/> ADICIÓN A LA PATENTE <input type="checkbox"/> SOLICITUD DIVISIONAL <input type="checkbox"/> CAMBIO DE MODALIDAD <input type="checkbox"/> TRANSFORMACIÓN SOLICITUD PATENTE EUROPEA <input type="checkbox"/> PCT: ENTRADA FASE NACIONAL		(3) EXPED. PRINCIPAL O DE ORIGEN: MODALIDAD NÚMERO SOLICITUD FECHA SOLICITUD				
CENTRO DE INVESTIGACIONES ENERGETICAS, MEDIOAMBIENTALES Y TECNOLOGICAS (C.I.E.M.A.T.)		NOMBRE				
		NACIONALIDAD ESPAÑOLA	CÓDIGO PAÍS ES	DNI/CIF Q2820002J	CNAE	PYME

(6) DATOS DEL PRIMER SOLICITANTE DOMICILIO Avda. Complutense, 22 LOCALIDAD MADRID PROVINCIA MADRID PAÍS RESIDENCIA ESPAÑA NACIONALIDAD ESPAÑA		TELÉFONO
		FAX
		CORREO ELECTRÓNICO
		CÓDIGO POSTAL 28040
		CÓDIGO PAÍS ES
		CÓDIGO NACION ES

(7) INVENTOR (ES): BALLESTEROS PERDICES NEGRO ALVAREZ MANZANARES SECADEROS		NOMBRE Mercedes Maria Jose Paloma	NACIONALIDAD ESPAÑOLA ESPAÑOLA ESPAÑOLA	CÓDIGO PAÍS ES ES ES
---	--	--	--	-------------------------------

(8) <input type="checkbox"/> EL SOLICITANTE ES EL INVENTOR <input checked="" type="checkbox"/> EL SOLICITANTE NO ES EL INVENTOR O ÚNICO INVENTOR		(9) MODO DE OBTENCIÓN DEL DERECHO: <input type="checkbox"/> INVENC. LABORAL <input checked="" type="checkbox"/> CONTRATO <input type="checkbox"/> SUCESIÓN		
--	--	---	--	--

(9) TÍTULO DE LA INVENCION PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE UN MATERIAL VEGETAL RESIDUAL MEDIANTE UN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO	
---	--

(11) EFECTUADO DEPÓSITO DE MATERIA BIOLÓGICA:		<input type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO
---	--	-----------------------------	--

(12) EXPOSICIONES OFICIALES: LUGAR		FECHA	
------------------------------------	--	-------	--

(13) DECLARACIONES DE PRIORIDAD: PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	NÚMERO	FECHA
--	--	-------------	--------	-------

(14) EL SOLICITANTE SE ACOGE AL APLAZAMIENTO DE PAGO DE TASAS PREVISTO EN EL ART. 162. LEY 11/86 DE PATENTES		<input type="checkbox"/>
--	--	--------------------------

(15) AGENTE/REPRESENTANTE: NOMBRE Y DIRECCIÓN POSTAL COMPLETA (SI AGENTE P.I., NOMBRE Y CÓDIGO) (RELLÉNSE, ÚNICAMENTE POR PROFESIONALES) GARCIA-CABRERIZO Y DEL SANTO, D. PEDRO MARÍA, 889/3, VITRUVIO 23, MADRID, MADRID, 28006	
---	--

(16) RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE SE ACOMPAÑAN: <input checked="" type="checkbox"/> DESCRIPCIÓN. N.º DE PÁGINAS: 10 <input checked="" type="checkbox"/> N.º DE REIVINDICACIONES: 5 <input checked="" type="checkbox"/> DIBUJOS. N.º DE PÁGINAS: 1 <input type="checkbox"/> LISTA DE SECUENCIAS N.º DE PÁGINAS: 0 <input checked="" type="checkbox"/> RESUMEN <input type="checkbox"/> DOCUMENTO DE PRIORIDAD <input type="checkbox"/> TRADUCCIÓN DEL DOCUMENTO DE PRIORIDAD		<input checked="" type="checkbox"/> DOCUMENTO DE REPRESENTACIÓN <input checked="" type="checkbox"/> JUSTIFICANTE DEL PAGO DE TASAS DE SOLICITUD <input type="checkbox"/> HOJA DE INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA <input type="checkbox"/> PRUEBAS DE LOS DIBUJOS <input type="checkbox"/> CUESTIONARIO DE PROSPECCIÓN <input type="checkbox"/> OTROS:		FIRMA DEL SOLICITANTE O REPRESENTANTE PEDRO GARCIA-CABRERIZO Agente de la Propiedad Industrial 889-3 Colegiado 178 (VER COMUNICACIÓN)
				FIRMA DEL FUNCIONARIO

NOTIFICACIÓN DE PAGO DE LA TASA DE CONCESIÓN: Se le notifica que esta solicitud se considerará retirada si no procede al pago de la tasa de concesión; para el pago de esta tasa dispone de tres meses a contar desde la publicación del anuncio de la concesión en el BOP, más los diez días que establece el art. 81 del R.D. 2245/1986	
--	--

ILMO. SR. DIRECTOR DE LA OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

Informacion@oepm.es

www.oepm.es

C/ PANAMÁ, 1 • 28071 MADRID

NOD-3101 - 1- EJEMPLAR PARA EL EXPEDIENTE

NO CUMPLIMENTAR LOS RECUADROS ENMARQUADOS EN ROJO



MINISTERIO
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA



Oficina Espafiola
de Patentes y Marcas

NÚMERO DE SOLICITUD

P 20 020 1671

FECHA DE PRESENTACIÓN

RESUMEN Y GRÁFICO

RESUMEN (Máx. 150 palabras)

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE UN MATERIAL VEGETAL RESIDUAL MEDIANTE UN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO

El tratamiento hidrotérmico se basa en poner en contacto el material vegetal residual bruto con agua caliente en un reactor cerrado comprendiendo las siguientes etapas:

- a) poner en contacto, en un reactor, el material a tratar con agua y ajustar la relación sólido/líquido de manera que esté comprendida entre 1/5 y 1/15 (p/v);
- b) agitar;
- c) calentar a una temperatura entre 180° y 240°C, y a una presión tal que se mantenga el agua en fase líquida;
- d) mantener la mezcla en agitación durante un periodo de tiempo comprendiendo entre 4 y 30 min; y
- e) enfriar el reactor hasta 40°C aproximadamente, descargar la mezcla, filtrar y recuperar la fracción líquida.

Figura 1.

GRÁFICO

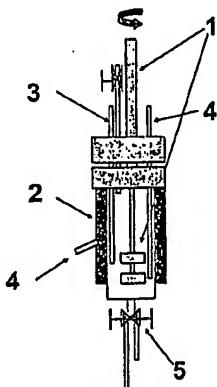


FIG. 1

HOGA DE INFORMACION COMPLEMENTARIA		NUMERO DE SOLICITUD P200201671		FECHA DE PRESENTACION		OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS		MINISTERIO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA			
<input checked="" type="checkbox"/> PATENTE DE INVENCION		<input type="checkbox"/> MODELO DE UTILIDAD		NOMBRE		NACIONALIDAD		APELIDOS		INVENTORES:	
(5) SOLICITANTES:		DENO. NACIONAL SOCIAL		CÓDIGO PAÍS CNAE PYME		NACIONALIDAD		BALLESSTROS PERDICES		OLIVA DOMINGUEZ	
(7) INVENTORES:		ES		IGUAZU JOSE MIGUEL		IGNACIO		LUGAR		(12) EXPOSICIONES OFICIALES:	
(13) DECLARACIONES DE PRIORIDAD:		PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS		NÚMERO		FECHA		(13) DECLARACIONES DE PRIORIDAD:	
NO CUMPLIR CON LOS REQUERIMIENTOS MARCADOS EN ROJO											



MINISTERIO
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA

PROTECTOR DE LA INVENCIÓN Y DERECHOS DE AUTOR



Oficina Española
de Patentes y Marcas

⑫

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN

P 200201671
⑪ NÚMERO DE SOLICITUD

⑬ NÚMERO	DATOS DE PRIORIDAD ⑭ FECHA	⑮ PAÍS	⑯ FECHA DE PRESENTACIÓN 17/07/2002
			⑰ PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
<p>⑲ SOLICITANTE (S) CENTRO DE INVESTIGACIONES ENERGETICAS, MEDIOAMBIENTALES Y TECNOLOGICAS (C.I.E.M.A.T.)</p> <p>DOMICLIO Avda. Complutense, 22 MADRID</p> <p>NACIONALIDAD ESPAÑA 28040 MADRID ESPAÑA</p>			
<p>⑳ INVENTOR (ES) Mercedes BALLESTEROS PERDICES, María Jose NEGRO ALVAREZ, Paloma MANZANARES SECADES, Ignacio BALLESTEROS PERDICES, José Miguel OLIVA DOMINGUEZ</p>			
㉑ Int. Cl.			
㉒ TÍTULO DE LA INVENCIÓN PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE UN MATERIAL VEGETAL RESIDUAL MEDIANTE UN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO	㉓		

FIG. 1

㉔ RESUMEN

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE UN MATERIAL VEGETAL
RESIDUAL MEDIANTE UN TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO

El tratamiento hidrotérmico se basa en poner en contacto el material vegetal residual bruto con agua caliente en un reactor cerrado comprendiendo las siguientes etapas:

- poner en contacto, en un reactor, el material a tratar con agua y ajustar la relación sólido/líquido de manera que esté comprendida entre 1/5 y 1/15 (p/v);
- agitarse;
- calentar a una temperatura entre 180° y 240°C, y a una presión tal que se mantenga el agua en fase líquida;
- mantener la mezcla en agitación durante un periodo de tiempo comprendiendo entre 4 y 30 min; y
- enfriar el reactor hasta 40°C aproximadamente, descargar la mezcla, filtrar y recuperar la fracción líquida.

Figura 1.

**PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION DE COMPUESTOS FENOLICOS A
PARTIR DE UN MATERIAL VEGETAL RESIDUAL MEDIANTE UN
TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO**

Objeto y Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos mayoritarios presentes en materiales vegetales residuales brutos, en particular en el residuo bruto del proceso de obtención de aceite de oliva en dos etapas, denominado "alpeorujo" mediante la utilización de un tratamiento hidrotérmico, particularmente de un tratamiento que utiliza agua
10 caliente en fase líquida. Mediante la aplicación de este tratamiento, se extraen el hidroxitirosol y tirosol presentes en el alpeorujo de forma que se puede determinar su contenido. Estos compuestos tienen un importante valor añadido como antioxidantes en la industria alimentaria y farmacéutica.

Antecedentes de la invención

15 Actualmente, el sistema de extracción de aceite de oliva según un procedimiento de extracción en dos etapas [J. Alba, F. Hidalgo, M^aA. Ruiz, F. Martínez, M^a J. Moyano, A. Cert, M^aC. Pérez y M^aV. Ruiz. "Características de los aceites de oliva de primera y segunda centrifugación" *Grasas y Aceites* 47, (1996) 163-181] ha reducido sustancialmente el volumen de los efluentes
20 producidos mediante el sistema tradicional en tres etapas que requiere la adición suplementaria de agua. No obstante, todavía se origina una elevada cantidad (alrededor de 2.600.000 t/ año en España) de un residuo, denominado orujo de dos etapas o "alpeorujo", formado por la pulpa, el hueso y las aguas de vegetación. El producto agotado, con un contenido en grasa inferior al 1% y una
25 humedad en torno al 65%, es un residuo molesto y muy abundante (alrededor del 80% de la aceituna moliturada) de imposible almacenamiento en la almazara. Debido a los problemas medioambientales, económicos y sociales que ocasiona la gran cantidad de subproducto generado, es necesario encontrar soluciones para un tratamiento integral del mismo que resulte factible desde un punto de
30 vista económico y no afecte negativamente al entorno medioambiental.

La reutilización de este subproducto en las extractoras de aceite de orujo convencionales para una extracción adicional del resto de aceite contenido en el mismo, plantea una difícil problemática asociada a sus características de consistencia pastosa y elevado contenido en azúcares y sólidos finos, que hacen 35 muy difícil su utilización como tal en los sistemas convencionales de secado de

las orujeras. Si bien se están desarrollando varias investigaciones para optimizar el proceso de secado desde un punto de vista operacional y de ahorro energético [R. Arjona, A. García y P.Ollero "The drying of alpeorújo, a waste product of the olive mill industry", *Journal of Food Engineering* 41 (1999) 229-234], el elevado gasto energético de la etapa de reducción de humedad supone un claro inconveniente desde el punto de vista económico. Otra alternativa de tratamiento para reducir el volumen de este residuo, como es su incineración en plantas de combustión, también requiere un secado previo del material y además puede conllevar una serie problemas medioambientales relacionados con las emisiones de gases tóxicos de la combustión. A este respecto, sería necesaria la utilización de los sistemas de limpieza de gases adecuados, lo que elevaría sustancialmente el coste económico global del proceso.

El alpeorújo contiene todos los azúcares y demás sustancias solubles que quedan disueltas en las aguas de vegetación del proceso convencional de extracción del aceite de oliva. Así pues, existe una posibilidad de revalorizar este residuo mediante la obtención de productos de alto valor añadido a partir del mismo, lo que supondría una mejora en la gestión de los subproductos de la industria olivarera, a la vez que permitiría la utilización de una fuente barata de materias primas para productos de interés industrial. Un ejemplo de esta aproximación a la revalorización del alpeorújo lo constituye la solicitud de patente ES 2060 549, que describe un procedimiento para la obtención de manitol y productos derivados a partir del alpeorújo, mediante procesos como dilución, filtración, decantación o centrifugación.

Además de compuestos como el manitol, en este subproducto se encuentran la mayoría de los polifenoles presentes en la pulpa y el hueso de aceituna, por lo que puede constituir una fuente adecuada de antioxidantes fenólicos naturales. Los compuestos fenólicos de la pulpa de la aceituna han sido extensamente investigados dada su importancia en el procesado de los frutos. El glucósido más abundante de la pulpa de la aceituna, la oleoeuropeína, está constituido por el éster heterosídico del ácido elenólico e hidroxitirosol y es el que confiere el sabor amargo a las aceitunas. La oleoeuropeína es muy abundante en los frutos verdes y su porcentaje se reduce cuantitativamente al alcanzar la madurez. También están presente en la pulpa el ligustrósido y el verbascósido. En el hueso, los glucósidos descritos son semejantes a los

anteriores y del tipo ligustrósido, de los que forma parte el tirosol en lugar de hidroxitirosol.

Los compuestos fenólicos más abundantes del alpeorujo son el tirosol e hidroxitirosol, junto con los ácidos p-cumárico, cafeico, ferúlico y vanílico en menor cantidad. El hidroxitirosol procede principalmente de la oleuropeína del fruto que se hidroliza por medio de una esterasa presente en la misma durante la molienda de la aceituna. Estos polifenoles, que están presentes principalmente en los frutos, pero también en menor cantidad, en hojas, flores y otros órganos de la planta, son compuestos antioxidantes naturales que cumplen diversas funciones. En un reciente estudio se ha comprobado el efecto antioxidante de los mismos ya que bloquean el proceso en la etapa de iniciación, bien oxidándose ellos mismos con formación de compuestos peroxídicos de naturaleza más estable, o bien actuando sobre los radicales ya formados evitando la etapa de propagación. Por una parte, los fenoles presentes en la aceituna protegen al aceite de su degradación [Gutfinger, T. "Polyphenols in olive oils" *J. Am. Oil Chem Soc.* **58** (1981) 966-7], y al nivel del metabolismo humano, poseen infinitas acciones biológicas potentes, las cuales han sido estudiadas *in vitro*. La más importante de ellas es la inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), que constituye una etapa esencial dentro del proceso aterogénico. Pero los compuestos fenólicos presentan asimismo una importante actividad secuestradora de radicales libres (conocida como actividad "scavenger") [F. Visioli, G. Bellomo, C. Galli. "Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols". *Biochem Biophys Res. Municipality* **247** (1998), 60-64] frente a la producción de anión superóxido y ácido hipocloroso, por lo que actúan a modo de protección frente a los radicales libres de oxígeno y sus efectos tóxicos y por lo tanto evitan el envejecimiento celular y los tumores [R.W. Owen, A. Giacosa, W.E. Hull, R. Haubner, B. Spiegelhalder, H. Bartsch "The antioxidant/ anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil" *Eur. J. Cancer* **36(10)**, (2000) 1235-1247], protegen frente a las enfermedades coronarias y están íntimamente relacionados con todos los beneficios atribuibles al consumo de aceite de oliva en la dieta mediterránea. Algunos de ellos, como el hidroxitirosol, son potentes inhibidores de la agregación plaquetaria y la generación de tromboxano y contrarrestan la producción del potente agente proinflamatorio leucotrieno B4.

El elevado potencial en la industria farmacéutica y alimentaria de estos compuestos de naturaleza fenólica ha promovido en los últimos años un creciente interés por su obtención partir de las hojas y frutos de olivo para diversas aplicaciones. Por ejemplo, en la solicitud de patente japonesa 5 JP08119825 se describe la aplicación del hidroxitiroso obtenido por extracción del aceite de oliva como componente activo de formulaciones cutáneas para tratamientos de la piel. La solicitud de patente WO 00/36936, describe la preparación de composiciones alimentarias que contienen niveles incrementados de compuestos fenólicos procedentes del aceite de oliva para potenciar sus 10 cualidades alimenticias. La patente US 6.165.475 se refiere a la utilización de la oleuropeína en diversas aplicaciones médicas o agrícolas, así como a un método para la preparación de un extracto acuoso rico en este compuesto a partir de los frutos. Sin embargo, no existen apenas referencias sobre la utilización de materiales vegetales, tales como la pulpa que queda después de la 15 extracción del aceite de oliva sin tratar (bruta), como sustrato para la recuperación de polifenoles, constituyendo la utilización de este sustrato bruto uno de los aspectos novedosos de la presente invención. En un trabajo publicado por los solicitantes para la producción de bioetanol a partir del alpeorújo [I. Ballesteros, J.M. Oliva, M.J. Negro, P. Manzanares, M. Ballesteros. 20 "Ethanol production from olive oil extraction residue pretreated with hot water" Applied Biochemistry and Biotechnology, 98-100 (2002) 717-732], se describe que tras un tratamiento hidrotérmico realizado para favorecer la posterior transformación a etanol de la celulosa contenida en el sustrato, se obtienen compuestos fenólicos como los descritos en la presente solicitud. No obstante, el 25 residuo utilizado en dicho trabajo ha sido sometido a un proceso de lavado y secado antes de su utilización con el fin de favorecer el proceso posterior de fermentación al que se somete. Sorprendentemente, los solicitantes han encontrado ahora que la utilización de este sustrato en estado bruto, es decir tal como se recibe de la almazara, sin haber sido sometido a ningún tratamiento previo de lavado y secado, es ventajosa en un procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos como el descrito en esta solicitud. En primer lugar, la 30 utilización de alpeorújo bruto evita el gasto de agua en la etapa de lavado y la posterior generación de un residuo líquido, cuya gestión puede resultar problemática desde el punto de vista medioambiental. Además, supone una 35 clara ventaja desde un punto de vista de ahorro energético ya que se evita la

etapa de secado posterior al lavado que se describe en el trabajo citado anteriormente. Finalmente, al utilizar el sustrato bruto se obtienen rendimientos más elevados de hidroxitirosol y tirosol que los correspondientes al mismo sustrato previamente lavado y secado.

- 5 En cuanto a los métodos de extracción de los compuestos fenólicos mayoritarios presentes en las hojas y los frutos, éstos varían dependiendo del tipo de material de partida. Así, se han descrito métodos de extracción de polifenoles con disolventes orgánicos tales como metanol/agua para la extracción en frutos [D. Ryan, H. Lawrence, P. Prenzler, M. Antolovich, K.
10 Robards. "Recovery of phenolic compounds from *Olea europaea*" *Analytica Chimica Acta* 445 (2001), 67-77], alcohol para extractos a partir de hojas (patente US 5.714.150), y éter/acetato de etilo [A.D. Bianco, I. Muzzalupo, A. Piperno, G. Romeo, N. Uccella "Bioactive derivatives of oleuropein from olive fruits" *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999), 3531-3534] o metanol [F. Angerosa, N.
15 D'Alessandro, Konstantinou, P., L. Di Giacinto "GC-LC evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil" *J. Agric. Food. Chem.* 43 (1995), 1802-1807] aplicados a la extracción de polifenoles del aceite de oliva. L. Lesage-Meessen et al., [L. Lesage-Meessen, D. Navarro, S. Maunier, J-C Sigoillot, J. Lorquin, M. Delattre, J-L. Simon, M. Asther y M. Labat. "Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems" *Food Chemistry* 75(4) (2001) 501-
20 507] describen la extracción de tirosol e hidroxitirosol del residuo de la obtención de aceite de oliva utilizando acetato de etilo, permitiendo recuperaciones de alrededor del 30% del total de fenoles presentes en el residuo. No obstante, todos estos métodos presentan el inconveniente de su elevado coste en cuanto
25 a la utilización de disolventes y la generación de residuos de difícil eliminación. En la patente WO 01/45514, se describe un método de extracción de composiciones antioxidantes a partir de los frutos y subproductos de la extracción del aceite de oliva, en un procedimiento multietapa que emplea varias extracciones acuosas y/o polares y matrices sólidas que es considerablemente
30 más complejo que el de la presente solicitud. En la solicitud de patente española ES 2143939, se describe la utilización de un procedimiento de explosión a vapor para la recuperación de los componentes estructurales fenólicos de los huesos de aceituna y las cáscaras de la semilla. Mediante este procedimiento, los materiales se tratan en un equipo de explosión a vapor de 2 l, a temperaturas de
35 alrededor de 200°C durante períodos de tiempo de 2 a 4 minutos, produciéndose

a continuación una descompresión brusca y la posterior descarga del reactor. Los resultados obtenidos muestran que en hueso se extrae hidroxitirolosol en concentraciones en el extracto soluble de hasta 1% en peso seco de hueso, cantidad menor a la obtenida en la pulpa, donde este polifenol se encuentra 5 mayoritariamente. En el caso de la cáscara de semillas, se obtiene tirosol en concentraciones de hasta 0,5% en peso seco y se comprueba que la adición de ácido al material antes del tratamiento aumenta sensiblemente las cantidades de fenoles detectadas en el extracto soluble.

El objetivo de la presente invención es extraer los derivados fenólicos 10 presentes en materiales vegetales residuales brutos, en particular en el residuo que queda tras la extracción del aceite de oliva por un proceso de centrifugación en dos etapas (alpeorujo), mediante un tratamiento hidrotérmico que emplea agua a elevada temperatura y a presión para mantener el agua en fase líquida.

En el sentido utilizado en esta descripción, el término "materiales vegetales 15 residuales brutos" incluye a residuos de origen vegetal que contengan derivados fenólicos, en particular derivados fenólicos, de interés industrial, tales como el alpeorujo, restos de huesos de aceituna, cascarras de semilla de aceituna, residuos de mazorca de maíz, etc, que no han sido sometidos previamente a su utilización, a ningún proceso de lavado y/o secado.

20 Tal como se utiliza en esta descripción, derivados fenólicos de interés industrial, incluye a los fenoles tirosol e hidroxitirosol.

En la presente invención se utiliza un tratamiento hidrotérmico, el cual utiliza agua caliente en fase líquida, para la extracción de derivados fenólicos del residuo bruto de la extracción del aceite de oliva. Esta aplicación del tratamiento 25 con agua caliente a la recuperación de compuestos fenólicos supone una nueva utilización del mismo que hasta el momento ha sido empleado fundamentalmente como pretratamiento de materiales lignocelulósicos previo a una hidrólisis enzimática de la celulosa a glucosa, como se describe en la patente US 5.846.787. Este tratamiento, en el caso del alpeorujo bruto, supone 30 una ventaja frente a los métodos de extracción antes mencionados ya que permite recuperar los fenoles de interés sin adición exógena de disolventes ni ácidos, lo que da por resultado una mayor economía del proceso global y una menor cantidad de residuos a eliminar.

El método de extracción mediante tratamiento hidrotérmico de esta 35 invención se basa en someter al material a tratar a un tratamiento con agua

caliente a una temperatura de 180 a 240°C, en un reactor cerrado tipo autoclave, a una presión tal que permite mantener el agua en fase líquida, durante un periodo de tiempo apropiado, de 4 a 30 minutos, con el fin de solubilizar los derivados fenólicos mayoritarios presentes en dicho material. A continuación, se 5 recupera la fracción líquida mediante filtración y se determina su contenido en fenoles. Durante el tratamiento del sustrato de la presente invención, se produce una autohidrólisis de los restos hemicelulósicos contenidos en dicho residuo de pulpa que genera la liberación de grupos acetilo y en consecuencia una disminución del pH de la fracción líquida, favoreciéndose así la solubilización de 10 los fenoles de interés. Una vez extraídos los derivados fenólicos, se determina su concentración en los extractos acuosos mediante técnicas de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) o técnicas de espectroscopía, que son bien conocidas por los expertos en la técnica.

15

Descripción de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para la extracción de compuestos fenólicos presentes en materiales vegetales residuales brutos, en particular en el residuo bruto del proceso de obtención de aceite de oliva en dos 20 etapas, denominado "alpeorijo", mediante la utilización de un tratamiento hidrotérmico que utiliza agua caliente en fase líquida. El material residual bruto se trata en un reactor tipo autoclave a una temperatura de 180°C a 240°C durante un periodo de tiempo apropiado, manteniendo durante ese periodo de tiempo el agua en fase líquida mediante la aplicación de la presión adecuada. A 25 continuación, el reactor se enfria, el material húmedo se filtra y se determina el contenido en tirosol e hidroxitirosol en la fracción líquida. Mediante este tratamiento se puede obtener un extracto acuoso con un contenido de hasta 1,9 % (p/p) de hidroxitirosol y 0,7% (p/p) de tirosol, a partir del cual se pueden obtener los compuestos de interés mediante técnicas de extracción/purificación 30 convencionales.

La aplicación del tratamiento hidrotérmico a la recuperación de fenoles solubles supone uno de los aspectos novedosos de esta invención y una ventaja respecto a los métodos descritos en la técnica en cuanto a que no emplea disolventes y/o ácidos, ni se producen despresurizaciones bruscas como ocurre 35 en el tratamiento de explosión a vapor. Por otra parte, la utilización como

sustrato de un material vegetal residual cuya eliminación puede llegar a suponer un problema, implica una clara ventaja desde el punto de vista medioambiental y de gestión de residuos. Además, la utilización de este material en estado bruto supone nuevas ventajas desde el punto de vista económico y medioambiental 5 respecto al material previamente lavado y secado, a la vez que permite aumentar los rendimientos de los compuestos fenólicos extraídos.

Breve descripción de los dibujos

Para complementar la descripción que antecede y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, se va a realizar una 10 descripción detallada de una realización preferida, en base a un juego de dibujos que se acompañan a esta memoria descriptiva y en donde, con carácter meramente orientativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

La Figura 1 muestra un diagrama esquemático del reactor tipo autoclave, con agitación, que se ha utilizado en la realización del procedimiento objeto de la 15 presente invención.

Descripción detallada de la invención

El material de partida utilizado en la realización particular de la presente invención es el residuo bruto de la extracción del aceite de oliva mediante un proceso de centrifugación en dos etapas, denominado alpeorujo, que contiene 20 restos de la pulpa, el hueso y las aguas de vegetación.

El reactor utilizado en la presente invención puede ser cualquier reactor diseñado para poder ser presurizado a presiones tales que el agua a una temperatura de 180-240°C se mantenga en fase líquida. En una realización particular, se ha utilizado un reactor de acero inoxidable tipo autoclave provisto 25 de una resistencia eléctrica y agitación magnética, con control de temperatura y velocidad de agitación (Fig. 1). Alrededor del reactor se acopla una unidad de refrigeración tipo serpentín para enfriar el reactor una vez finalizado el tiempo de tratamiento. Este tipo de reactores está disponible en varios tamaños, de 60 a 1000 ml y la temperatura del agua puede alcanzar de 100°C a 600°C. Una 30 temperatura preferida para la realización del procedimiento objeto de esta invención es la comprendida entre 180°C y 240°C. La presión máxima dentro del reactor puede alcanzar de 4,5 a 22,4 MPa, dependiendo del volumen del reactor y la temperatura de calentamiento seleccionada. La velocidad de calentamiento es de 2,5-3 °C/minuto. El tiempo de residencia del sustrato en el reactor hasta alcanzar la temperatura de tratamiento es de 60 a 90 minutos. 35

Una vez alcanzada la temperatura de tratamiento en interior del reactor, el periodo de tiempo de tratamiento a la temperatura seleccionada es variable, típicamente entre 4 y 30 minutos en esas condiciones.

El sustrato se introduce a temperatura ambiente (de 15 a 25°C) en el reactor, y se añade agua hasta alcanzar una proporción que permita tener una relación final sólido/líquido en el reactor de entre 1/5 y 1/15, por ejemplo 1/12. La velocidad del agitador se establece de manera que se consiga una mezcla acuosa completa, preferiblemente de 400 a 700 rpm. Se fija la temperatura de tratamiento y una vez alcanzada ésta, se comienza a contabilizar el tiempo de tratamiento previamente establecido. Una vez finalizado el tratamiento, se retira el reactor de la camisa de calentamiento y se carga agua fría a través del serpentín. La temperatura del contenido del reactor baja a 130°C en aproximadamente 2 minutos. El reactor permanece cerrado y la mezcla en agitación hasta que la temperatura desciende hasta aproximadamente 40°C. A continuación se abre el reactor, se descarga el material y éste se filtra. Se determina el contenido en tirosol e hidroxitirosol mediante técnicas estándares de cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

Ejemplo 1

El material utilizado en este ejemplo es un alpeoruno residual bruto de un proceso de obtención de aceite de oliva en dos etapas, proporcionado por la empresa Oleíca el Tejar S.C.L. (Córdoba, España), del que se había separado la fracción mayoritaria de hueso residual.

En primer lugar, se toma una muestra de la pulpa bruta y se calcula su contenido en sólidos mediante secado en estufa a 105°C hasta peso constante. El material citado anteriormente utilizado en este ejemplo tenía un porcentaje en sólidos del 30% (p/p).

Se utiliza un reactor de acero inoxidable tipo autoclave modelo EZE-Seal (Autoclave Engineers, Erie, Pensilvania, USA) de 500 ml de volumen, con una capacidad nominal de 400 ml. Según la utilización descrita en la presente invención, se abre el reactor y se introducen 160 g de sustrato bruto (48 g de peso seco según el % calculado anteriormente) y agua hasta 400 ml, a temperatura ambiente. La velocidad del agitador (1) se establece en 600 rpm. Se coloca la camisa calefactora (2) y la temperatura de tratamiento se establece en 225°C. Comienza el calentamiento del reactor y una vez alcanzada la temperatura seleccionada, se inicia un periodo de tratamiento del sustrato de 4

minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se desconecta el calentamiento y se retira la camisa calefactora (2). A continuación, se hace pasar agua a través del serpentín (3) y se deja enfriar la mezcla en agitación dentro del reactor cerrado, hasta que el termopar (4) conectado al reactor marca una temperatura de 5 aproximadamente 40°C. Se abre el reactor, y se descarga el sustrato tratado a través de una toma (5).

El sustrato se filtra y se determina el contenido en tirosol e hidroxitirosol mediante HPLC en un equipo Hewlett-Packard (Palo Alto, CA) equipado con un detector con conjunto de diodos. La separación cromatográfica se lleva a cabo 10 con una columna de acero inoxidable Aminex HPX-87H de Bio-Rad (Hercules, CA) utilizando ácido sulfúrico y acetonitrilo (82/18, v/v) como eluyente. Los compuestos de interés se identifican por su tiempo de retención y espectro de absorción en el intervalo de densidad óptica de 200-320 nm. La cuantificación se realiza utilizando estándares de tirosol, disponible en Sigma, (St. Louis, MO) y 15 oleuropeína suministrada por Extrasynthese (Genay, France). El estándar de hidroxitirosol se obtuvo a partir de la oleuropeína por hidrólisis ácida, según describen E. Graciani y A. Vázquez ["A Study of the poplar compounds in olive oil by high performance liquid chromatography (HPLC). Cromatography in inverse phase". *Grasas y Aceites* 31 (1980), 237-243].

20 Los resultados obtenidos muestran un contenido de hidroxitirosol y tirosol en la fracción líquida de 1,85% y 0,6% (sobre peso seco de pulpa), respectivamente.

Reivindicaciones

1. Procedimiento de extracción de compuestos fenólicos a partir de un material vegetal residual bruto mediante un tratamiento hidrotérmico, caracterizado por poner en contacto dicho material vegetal residual bruto, en un reactor cerrado, con agua caliente a una temperatura comprendida entre 180°C y 240°C, y a una presión tal que el agua se mantiene en fase líquida.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el citado material vegetal residual bruto se selecciona entre los residuos del proceso de obtención del aceite de oliva, tales como huesos, cáscaras de semillas, alpeorjo y mezcla de los mismos.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el citado reactor es un reactor agitado tipo autoclave.
4. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 ó 3, caracterizado por comprender las etapas de:
 - a) añadir el material vegetal residual bruto al reactor y ajustar la relación sólido/líquido en el reactor con agua, de manera que ésta esté comprendida entre 1/5 y 1/15 (p/v);
 - b) agitar;
 - c) calentar a una temperatura entre 180 y 240°C, y a una presión tal que mantenga el agua en fase líquida;
 - d) mantener la mezcla en agitación durante un periodo de tiempo comprendido entre 4 y 30 min ;y,
 - e) enfriar el reactor hasta aproximadamente 40°C, descargar la mezcla, filtrar y recuperar la fracción líquida.
5. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizado porque el contenido en tiosol e hidroxitiosol se determina mediante técnicas estándares de HPLC.

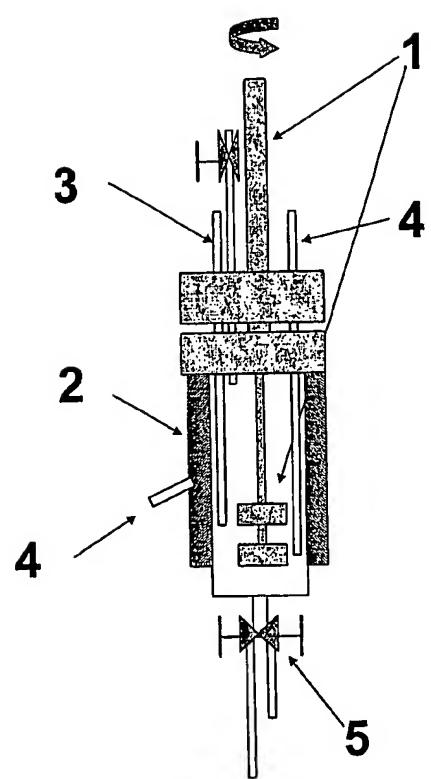


FIG. 1

Resumen

**PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS A
PARTIR DE UN MATERIAL VEGETAL RESIDUAL MEDIANTE UN
TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO**

5 El tratamiento hidrotérmico se basa en poner en contacto el material vegetal residual bruto con agua caliente en un reactor cerrado comprendiendo las siguientes etapas:

- 10 a) poner en contacto, en un reactor, el material a tratar con agua y ajustar la relación sólido/líquido de manera que esté comprendida entre 1/5 y 1/15 (p/v);
- b) agitar;
- c) calentar a una temperatura entre 180° y 240°C, y a una presión tal que se mantenga el agua en fase líquida;
- 15 d) mantener la mezcla en agitación durante un periodo de tiempo comprendiendo entre 4 y 30 min; y
- e) enfriar el reactor hasta 40°C aproximadamente, descargar la mezcla, filtrar y recuperar la fracción líquida.

Figura 1.